



TITLE:

Regulation of type 1 iodothyronine deiodinase by LXR α (Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Sakane, Yoriko

CITATION:

Sakane, Yoriko. Regulation of type 1 iodothyronine deiodinase by LXR α .
京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-09-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20670>

RIGHT:

Final publication is available at
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179213>

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	坂 根 依 利 子
論文題目	Regulation of type 1 iodothyronine deiodinase by LXR α （核内受容体 LXR α による 1 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素の転写調節機構について）		
（論文内容の要旨）			
<p>甲状腺ホルモンにはプロホルモンの T4 と活性型の T3 があり、核内受容体である甲状腺ホルモン受容体 (TR) に T3 が結合することで、脂質を含む多彩な代謝制御作用を発揮する。甲状腺ホルモン脱ヨード酵素、特に 1 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素 (D1) は肝臓に多く発現し、細胞内で T4 を代謝し T3 濃度を調節することで甲状腺ホルモン作用の調節を行うが、その発現調節には不明な点が多い。</p> <p>今回着目した核内受容体 Liver X receptor α (LXRα) も D1 と同様、肝臓での発現が多く、脂質代謝に関与することが知られている。LXRα は Retinoid X receptor α (RXRα) と共に TR の応答配列 (TRE) 上で TR と競合し転写調節を行うことが知られている。一方でヒト D1 遺伝子 (<i>hDIO1</i>) のプロモーター領域にも TRE が存在することも報告されているため、甲状腺ホルモン作用を調節する D1 の発現に LXRα が関与するという仮説を立て研究を開始した。</p> <p>まず、<i>hDIO1</i> のレポーターアッセイにおいて LXRα アゴニストである T0901317 (TO) を投与した。HepG2 細胞 (ヒト肝癌由来) と TSA201 細胞 (ヒト胎児腎由来) で検討し、HepG2 細胞でのみ <i>hDIO1</i> の転写開始点から 114～131 塩基上流 (以後 -131/-114 と表記) に TO による転写促進を担うプロモーター領域を同定した。また、定量 PCR 法で、TO 投与後の D1 mRNA の増加も確認した。シクロヘキシミド処理下では D1 mRNA の増加を認めず、LXRα を介した <i>hDIO1</i> の転写調節には蛋白合成が関与する可能性が示唆された。<i>in silico</i> 解析により、-131/-114 には TRE と AP-1 site が転写因子の結合ドメインとして含まれることが分かった。そこで両部位に変異を導入したコンストラクトを用いてレポーターアッセイを行うと、レポーター活性が著しく低下し、TO による転写促進も消失した。両部位への蛋白の結合を確認するため、HepG2 細胞の核蛋白を用いたゲルシフトアッセイを行い、DNA/蛋白の複合体形成が -126/-125 への変異導入により障害されることを確認した。複合体を形成する蛋白を同定するため、特異抗体によるスーパーシフトアッセイを行った。その結果、TRE は 2 つの half-site から構成されるが、5 末端側の half-site のみ含む -141/-112 の配列には RXRα が、2 つの half-site を含む -131/-104 の配列には LXRα 及び RXRα が結合することが明らかとなった。更に、クロマチン免疫沈降法により、細胞内でも LXRα が <i>hDIO1</i> のプロモーター領域に結合することを確認した。最後に、LXRα と、肝臓に多く発現する TR のサブタイプである TRβ との相互作用について、2 つの TRE half-site を含む -131/-4 のコンストラクトを用いたレポーターアッセイで検討した。T3 の結合がない TR はプロモーター活性を抑制することが知られており、今回の検討でも TRβ 強発現下でのレポーター活性は抑制された。また、TRβ 強発現下では TO によ</p>			

る転写促進も抑制され、その抑制は LXR α /RXR α の強発現下では解除されたのに対し、siRNA により TR β の発現を抑制すると TO による転写促進は増強された。 以上より、LXR α は <i>hDIO1</i> のプロモーター領域に結合し転写調節を行うこと、同領域上で LXR α /RXR α と TR β が相互に干渉し転写調節を行うことを明らかにした。LXR α は甲状腺ホルモンの作用を調節することで脂質代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。 （論文審査の結果の要旨） 甲状腺ホルモンはプロホルモンの T4 と活性型の T3 があり、甲状腺ホルモン受容体（TR）に T3 が結合し、脂質を含む代謝制御作用を発揮する。1 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素（D1）は肝臓に多く、細胞内で T4 を T3 に代謝し甲状腺ホルモン作用の調節を行うが、その発現調節には不明な点が多い。Liver X receptor α （LXR α ）も肝臓で多く発現し、脂質代謝に関与する。LXR α は Retinoid X receptor α （RXR α ）と核内受容体応答配列（NRE）上で TR と競合し転写調節を行うことが知られている。一方でヒト D1 遺伝子（ <i>hDIO1</i> ）のプロモーター領域にも NRE である甲状腺ホルモン応答配列（TRE）が存在するため、申請者は LXR α が <i>hDIO1</i> の転写調節を行うかを検討した。HepG2 細胞と TSA201 細胞を用い、HepG2 細胞でのみ <i>hDIO1</i> のプロモーター領域（-131/-114）に LXR α により転写活性が増大する領域を同定した。また、定量 PCR 法で、TO 投与後の <i>hDIO1</i> mRNA の増加を確認した。HepG2 細胞の核蛋白を用いたゲルシフトアッセイでは、-131/-114 に RXR α が、-131/-104 に RXR α と LXR α が結合することを証明する共に、プロモーターアッセイでは、-131/-4 で LXR α /RXR α と TR β が競合し <i>hDIO1</i> の転写調節を行うことを明らかにした。 以上の研究は、LXR α による <i>hDIO1</i> の転写調節機構の解明に貢献し、内分泌学及び代謝学の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 8 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			